

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 26 年 4 月 25 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 佐賀大学
 職 名 教授
 研究代表者 副島 英伸
 勤務先所在地 〒849-8501
 佐賀県佐賀市鍋島 5-1-1
 電 話 番 号 0952-34-2260
 ファックス番号 0952-34-2067
 E - メ - ル soejimah@cc.saga-u.ac.jp

下記により共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:13013)

1. 共同研究課題名	エピゲノム・ゲノム解析による間葉性異形成胎盤(PMD)の原因遺伝子同定			
2. 共同研究目的	間葉性異形成胎盤(PMD)の原因遺伝子を同定するため、検体から抽出した DNA についてゲノム科学リソース分野畑田教授が開発した MIAMI 法にて、網羅的エピゲノム解析を行う。MIAMI 法により、DNA メチル化異常を示す候補遺伝子を抽出し、個々の遺伝子についてメチル化異常を確定する。一方、当研究室にて SNP アレイおよびエクソーム解析を行い、ゲノム構造と遺伝子変異に基づいた原因遺伝子同定を試みる。これらの結果を統合して、PMD の原因遺伝子を同定し、分子遺伝学的診断法の開発基盤を確立する。			
3. 共同研究期間	平成 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	年齢	所属部局等	職名等	役割分担
(研究代表者) 副島英伸	50	佐賀大学医学部	教授	研究統括、検体収集
(分担研究者) 東元 健	42	佐賀大学医学部	助教	エピゲノム・ゲノム解析
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	ゲノム科学リソース分 野	氏 名	畑田 出穂

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

間葉性異形成胎盤(Placental mesenchymal dysplasia:PMD)は、胞状奇胎と類似した嚢胞状変化を呈するが、組織学的にはトロホブラストの異常増殖を認めない胎盤形態異常である。超音波断層法にて嚢胞状変化を呈するため、部分胞状奇胎や胎児共存奇胎との鑑別を要し、高率に早産、胎児発育不全(FGR)、胎児死亡(IUFD)を合併する。本研究では、病理組織学的に診断された症例を収集し、網羅的ゲノム・エピゲノム解析を行うことにより、原因遺伝子を同定し、分子遺伝学的診断開発のための基盤確立を目的とする。凍結保存されていた胎盤DNAをもちいて、畑田教授が開発したMIAMI法にてゲノム網羅的なDNAメチル化解析を行い、候補遺伝子を抽出する。MIAMI法にて候補遺伝子を抽出できない場合は、HumanMethylation450 BeadChip (Illumina 社)を用い手解析する。一方、11p15 領域の片親性ダイソミー(UPD)解析および SNP アレイ解析を行い、ゲノム構造と遺伝子変異に基づいた原因遺伝子同定を試みる。

7. 共同研究の成果

- 1) MIAMI 法を用いて PMD4 例、健常コントロール 5 例のゲノム網羅的な DNA メチル化解析を行い、PMD3 検体以上で高メチル化を示した遺伝子 8 個を見いだした。これらの MIAMI プローブの位置を詳細に調べたところ、遺伝子発現を制御するプロモーター領域には存在しなかった。このため、遺伝子発現に関連する可能性が低いと考え、2)のアプローチによる解析を行った。
- 2) 凍結 PMD 検体 5 例と妊娠週数を可能な限りあわせた正常胎盤 7 例について、HumanMethylation450 BeadChip を用いて、全ゲノムの DNA メチル化解析を行った。複数の CpG が連続して異常値を示し、かつその部位がプロモーター近傍であるような遺伝子を絞り込んだ結果、PMD で高メチル化を示す遺伝子 2 個と低メチル化を示す遺伝子を 5 個同定した。
- 3) 11p15 領域の STR を用いて UPD について解析した。解析できた 22 例中 20 例(90.9%)に父性片親性ダイソミー(patUPD)のモザイクを認めた。このうち、17 例が isodisomy で 3 例が heterodisomy であった。また、20 例のうち 6 例について Genome-Wide Human SNP array 6.0(Affymetrix 社)で解析したところ、全例全染色体 patUPD モザイク、つまり androgenetic/biparental モザイクであった。一方、patUPD を認めなかった 2 例のうち 1 例ではインプリント遺伝子の発現を制御する KvDMR1 領域の異常低メチル化を認めた。さらに、KvDMR1 によって制御されるインプリント遺伝子である *p57^{KIP2}* と *PHLDA2* の遺伝子発現量が低下していた。

以上の結果より、PMD の多くの症例は androgenetic/biparental モザイクが関与している可能性があり、特に 11p15 のゲノム・インプリンティング異常が重要であることが示唆された。一方、HumanMethylation450 BeadChip によるエピゲノム解析では、いくつかの候補遺伝子を同定できた。しかし、胎盤におけるメチル化は、妊娠週数、個体間、同一胎盤内での部位による違いが存在することから、今後これらの遺伝子については詳細且つ慎重に解析していく必要がある。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。)

なし